(GENETIC RECOMBINATION)

تعالوا بقى عشان خدنا شابتر 5و6 المرة اللى فاتت حسيت إن بعضكم إيه؟؟
حاسه تاه أو ما استوعبش , تيجى بصورة واحدة ورسمة واحدة نراجع شابتر 5و6 إيه رأيكم؟؟ حلوة الحاجات دى

هنراجع شابتر 5و6 اللى هما bacterial genetics وbacterial variation فى صورة واحدة وعايزك دايمًا تذاكر بالطريقة دى,
بص كدا ال bacterial genome هو مين؟؟
هو ال total set of genes اللى موجودة جوا ال bacterial cell
راجع معايا وسمع معايا, ال bacterial chromosome أهو... ها ### أهيه ممكن يكون ######### أهو اللى هو الجزء بتاع ال DNA بتاع ال bacteriophage اللى ممكن ### نفسه كروموسوم, صح؟؟ وممكن transposable genetic element أهى, اللى هو non replicating segment أو fragment اللى ممكن تـ insert نفسها بس فاضل إن إحنا نرسم الأحمر على الكروموسوم او على ال plasmid تعالى نمسك واحدة واحدة فيهم
Bacterial chromosome أوصفه لى بسرعة, عايز سبع تمن كلمات تلخص لى الموضوع:
Single, circular, double stranded DNA molecule

لأن طوله واحد ملليمتر لو فكيته وفردته يبقى لازم يبقى Supercoiled عشان نعرف نحشره جوه الخلية, صح؟
Attached at one point of the cytoplasmic membrane لحتة اسمها ال mesosome
ودى هتسهله عملية إنه يـ replicate, صح؟ حلو.
طوله ال average بتاعه حوالى 4 مليون لـ 5 مليون bp يعنى 4 ألاف لـ 5 ألاف base pair حلو أوى.
تركيبه زى أى DNA ف الدنيا ومش هنتطرق للقصة دى, Two strands كل strand معمولة من فوسفات ماسك فى ال sugar وباصص ف الناحية التانية للـ strand قد تكون أدينين أو جوانين أو سيتوزين أو ثايمين بحيث إن ال 2 strands يمسكوا بعض بـ hydrogen bond بين ال complementary bases, يعنى الأدينين مايمسكش غير مع الثايمين والسيتوزين مايمسكش غير مع الجوانين, دا التركيب, الوظيفة عايزين كلمتين من غير من غير تفاصيل, وظيفة أى DNA ف الدنيا أو الكروموسوم بشكل خاص هما حاجتين إيه؟ قادر على الـ replication أثناء ال cell division وبيحمل ال genetic information ونزود عليها كلمتين عشان تبقى الجملة حلوة...
بيحمل أنهى genetic information ها؟
ال essential الـ necessary المهمة الضرورية لل multiplication, survival, growth و
هكذا ... كده الكروموسوم كفاية عليه الكلام دا, شوفى راجعنا صفحة بسرعة إزاى.

VISIT…

LANZAROTE
Caliente.COM

طب نيجى نراجع ال plasmid
من واقع الرسمة اللى قدامك اذكر لى 7 أوصاف للـ plasmid قولناهم المرة اللى فاتت هما بردو:
circular extrachromosomal double stranded molecule of DNA, يبقى بسرعة ال plasmid تانى عايزين 7 كلمات, ع فكرة أنا براجع عشان كلمة ف ال plasmid ركزنا عليها مرة و مرة عديناها كده فعايز اركز عليها عشان هى مهمة,
يللا يا أولاد ال plasmid توصفهالى من الرسمة بـ 7 كلمات:
extrachromosomal و circular وdouble stranded وsmaller than bacterial chromosome DNA molecule فاضل صفتين نستنتجهم من خلال الرسم, كونه راسملك أكتر من واحد معناها إنه يقدر يـ replicate independently of bacterial chromosome.
وعلى حسب ال replication بتاعه وعدد وحجم ال plasmid اللى جوا الخلية,
هنقسم ال plasmid لنوعين:
1 - نوع اسمه relaxed :
يعنى بيـ multiply على راحته ع كيفه مفيش حاجة تحده يعنى مش محتاج بروتين عشان يبدأ ال replication فمثل هذا ال plasmid ال relaxed يبقى small in size ويقعد يـ replicate كتير فيوصل لـ large copy number منه يعنى بيوصل من 30 لـ 50 copy ف الخلية الواحدة.
2 - لكن فيه نوع تانى اسمه stringent:
يعنى محدود, فيه عوامل بتحده, عوامل إيه؟ حاجتين:
- إنه محتاج certain proteins لازم الخلية تصنعهاله فمايقدرش يـ replicate إلا لما الخلية تعملهوله,
- الحاجة التانية إن حجمه كبير فما يقدرش يوصل للعدد الكبير دوت يبقى large in size وبيعتمد على ال protein synthesis بتاع الخلية وبيعمل من واحد لخمسة copies بس.
أما فى ال genetic engineering بتاع حصة انهارده استغل مين فيهم؟
الـ relaxed ولا الـstringent؟ أكيد هستخدم ال relaxed لأنه صغير هيشيله fragment كبيرة من ال DNA ويدخلهالى جوا الخلايا اللى أنا عايزها ولأنه هيـ replicate كتير يقوم يعملamplification ... يكتر ف ال DNA اللى أنا محتاجه, طب كان فيه صفة اللى أنا ركزت عليها ف حصة وما ركزتش عليها ف حصة فأنا أسف عشان كدا المراجعة دايمًا الإفادة ها...
كنا أكملنا بقا فى الـplasmid ووظايفه ف حصة من الحصتين اللى فاتوا
- اللى هو dispensable --> يعنى يمكن الإستغناء عنه تستنتج دى إزاى؟ تستنتجها من سؤال منطقى لما DNA molecule ماقولتش عليه كروموسوم ليه؟ لما هو circular و double strandedو DNA وبيحمل صفات genetic وبيـ replicate من تلقاء نفسه ما قولتش ليه إن الخلية دى فيها 2 chromosome ليه؟ لأن فيه فرق بين الكروموسوم و ال plasmid أساسى دا اللى يفكرك بالصفة السابعة يبقى إيه بقى الفرق دا؟

إن الplasmid بيحمل صفات not essential لل gross ولا ال replication ولا ال survival يعنى يمكن الإستغناء عنه؟ نعم, يعنى يمكن أوصف الإستغناء عنه دى ف كلمة واحدة... كلمة إيه؟؟ dispensable يعنى غير ضرورى يعنى يمكن الإستغناء عنه بدليل عايز دليل؟ فيه دليلين,
أثناء الخلية ما بتـ divide ممكن أوى ال plasmid ما ميكونش عمل replication وواحدة من ال daughter cell تاخد ال copy دى وال daughter cell التانية دى ماتاخدش copy يعنى ممكن يحصل ما يعرف بال plasmid loss أثناء ال cell division؟ نعم, طب والخلية اللى ماخدتش copy من ال plasmid تقدر تعيش؟ نعم, وتـ grow؟ نعم, وتـ replicate؟ أيوه, وتـ divide وتعمل كل الحاجات المهمة؟ أيوه, يعنى ال plasmid بالشكل ادا مش ضرورى؟ yes, يبقى د الدليل على إنه dispensable يعنى يمكن الإستغناء عنه, وإيه تانى؟ إن إحنا ممكن experimentally نخلى لخلية تطرد ال plasmid اللى جواها إزاى؟ اعرضها لحرارة عالية شوية high temperature عن الoptimum بتاعها يعنى أحطها ف درجة حرارة 42 أو 43 هى بتحب من 20 لـ 40 تقوم تحس 42 أو 43 حر شوية تقوم تتحرر من حاجات حاسة إنها مش essential تتحرر من بعض ال plasmid اللى جواها؟ آه, وتقدر تعيش؟ آه, يبقى ال plasmid مش مهم يبقى ال dispensable... plasmid يمكن الإستغناء عنه.

طب لما هو مش مهم إيه الوظايف اللى ممكن يعطيها للخلية؟

ذكرنا 5 نقط المرة اللى فاتت هاه...

1 - ممكن نخلى البكتيريا تكون sex pilus أهو يبقى sex pilus formation وسمينا الplasmid ف هذه الحالة R- bacterial F factor يعنى fertility factor بيعنى ال plasmid اللى بيحمل fertility gene يخلى الخلية تعمل sex pilus اللى هتعمل بيه الخلية conjugation هنشوفها حالًا دلوقتى

2 - نمرة 2 يخلى البكتيريا resistant to antibiotics

يعنى يكون ال plasmid بيحمل gene اسمه R gene.. R يعنى resistance تخليها تـ resist ال antibiotics يعنى for example أنا هرش ع البكتيريا دى Penicillin تقوم البكتريا تعزز ال Penicillinase enzyme يتغدى بال Penicillin قبل ما ال Penicillin يتعشى بالخلية, ممكن الplasmid يخلى الخلية virulent أو V بس V يعنى رمز كلمة virulent ويخليها virulent يعنى يخليها تـ resist ال Capable of producing disease

يعنى تخليها تـ produce toxins, بالشكل ادا تعمل disease ف البنى أدم يخليها تقدر تغزو الجسم تعمل Invasion يخليها تقدر تـ attach وتكلبش ف ال mucous membrane تقوم تعمل infection كل دى اسمها virulence factors وهنا علل ليه بعض ال plasmid يخلى البكتريا pathogenic؟

3 - عشان بعض ال plasmid بيمنح البكتريا ال virulent factors.

4 - ممكن ال plasmid يخلى البكتريا دى تفرز toxin اسمه Bacteriocin وCin يعنى قاتل, لما تسمع أى كلمة أخرها cin ف الآخر زى الأفلام الأجنبية .

يعنى ال antibiotic القاتل يعنى Bacteriocin يعنى Substance toxic to produce bacterial strains to kill other strains نوع من التنافس البيولوجى يعنى البكتريا بتقول

أنا ومن بعدى الطوفان أنا عايز أعيش أموت اللى حواليا عشان أقدر ادوم تقوم تـ produce مادة تقتل بيها اللى حواليها.

5 - فيه other properties ممكن ال plasmid تديها للخلية وقلتلكم تحت مسمى Others, مكتوب 7 أو 8 حاجات اعرف واحدة ولا اتنين بالكتير يعنى antibiotic production أو H2S Production أو sugar fermentation حاجات كدا, احفظ مثال ولا اتنين وكفاية, هيقولك mention أو enumerate ال functions of plasmid تختار واحدة بالتفصيل وتتكلم عليها.

تالت حاجة اتكلمنا عليها كانت transposable genetic elements
وقولتلك إن دى بقا ال fragment اللى بالأحمر دى, مقدرتش أرسمها free ماقدرش أرسم ال transposable ف شكل segment أوfragment, هى free كدا ف ال cytoplasm ليه؟؟ اللى يعيش free لازم يكون قادر يتحمل تكلفة المعيشة لازم يكون قادر ع ال replication وهذه ال fragment replicated بتكون are not capable of replication يبقى لا يمكن تعيش free أمال؟؟ هتـ insert نفسها ف molecule قادر ع ال replication أهو عشان كدا رسمت لك الأحمر جوه الكروموسوم أو جوه ال plasmid يبقى transposable genetic elements:

Fragment of DNA are not capable of automatic replication
وتـ insert نفسها على molecule قادر ع ال replication فتـ insert نفسها ف الكروموسوم أو ال plasmid وعشان متبقاش ضيف تقيل ف المكان دوت تقوم تغير ال position بتاعها تتنطط من مكان لمكان يبقى Capable of changing their position from one location to another يأما ع نفس ال molecule يأما من molecule لـ molecule والعكس صحيح.

إيه اللى بيمكنها تعمل كدا؟؟ عندها enzyme بيقص و يلزق اسمه transposases أو integrases تفتح DNA molecule وتحط نفسها وتقفل يعنى كأنه 2 actions هنسمعهم إنهارده.

Restriction endonucleaseيقطع و Ligase يلحم دا اللى هناخده ف ال Genetic engineering دلوقتى حالًا حلو أوى, آه فيه حتة لى محضرش الحصة اللى فاتت أنواع ال transposable ال 4 classes اللى عندكوا عناوين بس تحفظ عناوينهم بس, تفاصيلهم مشطوبة, الصفحة الأخيرة ف شابتر 5 ال 4 classes بتوع ال transposable genetic elements نحفظ عناوين بس, يعنى كلمة Insertion sequence كلمة Transposon أو Integrons أو Pathogenicity islands عناوين بس تفاصيلهم مش علينا.

رابع واحد ممكن يمثل جزء من ال genome اسمه Bacteriophage وخدناه ف شابتر 4, أدى شابتر 5 واحد يقولى ياه دا إحنا قعدنا حصة ف شابتر 5 إيه السرعة دى ما هى المراجعة كدا هى المراجعة أسرع ما هيجيلنا وقت نراجع ال general كله ف قعدة واحدة إن شاء الله بس أهم حاجة تذاكروا.

شابتر 6
اتكلمنا عن حاجة اسمها Bacterial variation صح؟
يعنى إيه Bacterial variation؟؟
يعنى change ف ال bacterial character قد تكون إيه أو إيه يا ولاد؟؟ قد تكون Phenotypic أو Genotypic يعنى التغير الظاهرى للبكتريا بتتغير؟ In relation to environment يعنى طول ما العامل ال environmental موجود طول ما الصفة متغيرة صح؟ طب لو اتشال العامل ال environmental الصفة ترجع, تبقى العملية reversible تبقى transient ولا تورث؟ يعنى لو البكتريا عملت division ف التوقيت دا ماتورثش الصفة دى لولادها .
أشهر مثالين عندنا ف البكتريا ال L.forms للى محضرش معانا الشابتر التانى, يعنى بكتريا كمان عندها cell wall اتعرض ل penicillin أو lysozyme أو certain factors يقوم ال cell wall يكسر, كسر تصادف وجودها ف isotonic فتقوم تقدر تعيش شوية, طب لو اتشال ال penicillin أو ال lysozyme يرجع يتكون ال cell wall تانى يبقى ينطبق عليها قصة ال Phenotypic variation.
امال يعنى إيه Genotypic variation ؟
يعنى change ف ال character بتاع البكتريا بس نتيجة ل change ف ال underline genetic constitution يعنى ال genes اتكلمنا عنها دى لازم يحصل فيها تغيير فبيحصل فيها تغيير إزاى؟ طبعًا عملية ال irreversible وتورث بقا لأن تورث الجينات و الجينات تنقسم أثناء ال division مش كدا ولا إيه !! فتبقى irreversible يعنى permanent وتبقى heritable تورث, والأمثلة بتاعتنا بغير الجينات يعنى الصفات الوراثية بتاعتنا يأما بال mutation لأنه by gene transfer ع نفس الرسمة بقولك ف رسمة واحدة بنراجع 2 chapters.
تعمل mutation إزاى؟
أروح عامل كدا أجى ع Gene وأعمل كدا أخليه zigzag line يعنى و ال gene دا حصل فيه alteration حصل فيه change ف ال nucleotide sequence, لكن هل عدد ال genes جوه الخلية اتغيرت؟

أدى دا معنى الـmutation

Change in the nucleotide sequence without change of the total number of genes.

كيف يحدث ال mutation؟
يأما spontaneous تلقائى يا error of replication خطأ ف ال replication لواحد فالعشرة المليون
لكن لو بكتيريا بت divide under unfavorable conditions ممكن معدل ال mutation يعلى يبقى واحد ف الألف أو واحد ف العشرة ألاف مش كدا, يبقى اسمه Induced mutation وال mutation ع حسب ال mechanism يأما base تستبدل ب base واحدة؟؟ أه, يقوموا يسموه Point mutation أو Single base mutation وقلت مثال

يعنى البكتريا يكون عندها كودون اسمه UUA UUU وبعدين اثناء ماهى عايشة يحصل mutation ف ال U التالتة دى وتبقى CUU يبقى ادا single mutation ولا لأ؟ اللى هو نتيجة لـ substitution of a base with another حاجة م الاتنين :

1- يأما يبقى كأنه محصلش زى المثال اللى قدامك ده ... لما ال resulting codon يـ code for the same amino acid of original codon والمثال اللى قدامك ادا حقيقى ال UUU وال CUU بيـ code for phenylalanine يعنى البكتريا اللى عندها UUU بتطلع phenylalanine طب لما تتغير لـ CUU هتطلع phenylalanine يبقى كأن ال change متحسش بيه يتسمى Silent mutation.

2- لكن لو change ف pint حصل UUA يبقى ال amino acid الناتج اسمه leucine, أه يبقى كدا ال resulting amino acid مختلفه عن ال original amino acid يبقى هنشوف change ف البكتريا وال change ادا قد يكون deletion أولاً depending ع إن ال amino acid ادا موجود ف أنهى منطقة جوا البروتين؟ منطقة مؤثرة ولا منطقة فرعية مش مهم ماشى الكلام وال mutation قد يكون بالinsertion او الdeletion يعنى لو أنا جبت المجموعة اللى قاعدة قدامى دى وروحت جايب داليا وحطناها ف النص زرعتها ف النص بينهم يبقى عملتلها insertion يبقى الرابطة دى تختلف يبقى ادا اسمه Frame shift phenomenon والعكس صحيح.

دكتور محمد لو جيت رحت شايل محمد ادا اسمه deletion يبقى بردو الرصة اختلفت يبقى بردو حصل تغير ف ال frame يبقى اسمه frame shift phenomenon طيب و ال gene transfer ع نفس الرسمة يترسم بقى إزاى؟ بصوا كدا, شايفين الصورة دى؟ ال gene transfer البكتريا تكتسب gene بطريقة من تلاتة أهو, بص كدا لو روحت راسملك هنا sex pilus وروحت راسم هنا بكتيريايه اخرى نخلى ال sex pilus متقطع كأنه بتاع اللى ع الشمال دى ال donor وادا ال recipient يبقى لو هتابع ال gene transfer من خلية لخلية ال donor دى تدى ال recipient ال gene ادا عن طريق ال sex pilus ودى عملية سميناها Conjugation.

بكتريا عندها F gene تعمل sex pilus تروح ماسكة فيها بكتريا أخرى وال genetic material تعدى من هذا ال tunnel النفق دوت, أدى دى عملية سميناها Conjugation وليها رسمة سهلة أوى ف الكتاب عندك.

يأما Bacteriophage يكون عمل infection لبكترياية وأخد منها DNA ويجى يصيب البكترياية دى يقوم يحقن جواها DNA جديد ودى عملية سميناها Transduction

Gene transfer from one bacterial cell to another bacterial cell by a bacteriophage.

اسمها Transduction أو Transformation بكترياية كانت عايشة قريبة ف نفس ال environment

ماتت واتحللت وال DNA بتاعها بقى fragmentedوبعض ال fragment يحصلها take up لـ recipient عن طريق cytoplasmic membrane وسمينا العملية دى transformation يبقى الـdefinitions التلاته قدامك اهى

على فكرة المتحن فى ال mcq ممكن مايبقاش سهل ويقولك ايه نوع ال gene ال

بيحصله transfer الى بيتطلب وجود 2 intact bacterial cell لو بصيت كده تلاقى هنا كنت عايز بكتيريابة واحده وال bacteriophage التانى يكسر الاولانية ودى خلاص الاولانية مابقتش intact يبقى عشان يحصل gene transferبين 2intact cell هى عملية conjugation خلية intact donar وخليه intact recipient وبينهم sex pilus
ايه نوع gene transfer الى بيتم بمساعدة vector اسمه bacteriophage او بمساعدة vector وخلاص ويسكت ؟؟يبقى transduction .
ايه ال gene transfer الى بيتم عن طريق وجود بروتين فى cytoplasmic membrane ؟؟ هو transformation لا بد من وجود بروتين فى cell membrane قادر على انه ي bind ال DNA ويدخله جوه السيتوبلازم سمينا القصة دى competence وفى genetic engineering عشان نعوض غياب الcompetence احط البكتيريايه بتاعتى فى buffer غنى بالكالسيوم كلوريد يوسع cell membrane permeability يزودها يقوم يدينى اللى هى اخترقت الخليه زى ماهنشوف حالا وصلت للشابتر بتاعنا بتاع النهارده الى اسمه genetic recombination
يلا ياولاد شابتر 7 هناخده بس النهارده عشان اطمنكو عشان يبقى كملنا الوحدة الى اسمها genetic engineering وعشان هبدا وحده جديده من الحصة الجاية وعشان بردو الناس الى جم متاخر مايبقاش فاتهم كتير احنا بس هناخد الكام صفحة الى هم شابتر 7 بس ان شاء الله ونروح ايه رايكم؟
لا والله مش صعب دا انتو عندكو فكرة عن نص الكلام الى هقوله يلا بصو يا ولاد

genatic recombination

فنتابع مع بعض على screen بصو كده مكتوبلك ايه
دول different genetic material و different genetic molecule
كل genetic material فيهم بص هتعمل جين معين فى ال molecule الاولانى هتعمل جين 1 ف التانى هقول جين 2 ف التالت هسمى جين 3 ... دول موجودين على نفس ال molecule ولا different molecule؟؟؟
different molecule طب جميل لو انا جيت قصتهم خدت واحد وقصيته من chromosome او من DNA material نمرة واحد وقصيت الجين نمرة اتنين والجين نمرة 3و ربطتهم ببعض يبقى انا كده عملت مايعرف بعنوان الشابتر الى هو gene recombination
او عملك new combination of genes وعشان كده من الرسمة الى قدامك فى ابسط ال definition فى الشابتر يعنى ايه gene recombination
يعنى بص تلت اربع جمل اهو
واحد ودى كلمه مهمة بعضكو بيشطبها او مايهتمش بيها .هذا الكلام بيتم in vitro يعنى خارج الجسم اوعى يادكتور يا باحث ياعالم يا بتاع genetics تعمل genetic recombination جوة جسم البنى ادم

التجارب دى in vitro مش in vivo تقعد تألف كده يطلعك combination خطيرة ماتعرفش توقفها عند حدها يبقى الكلام ده بيحصل فى المعامل يبقى in vitro هنا مهمة

- invitro modification and recombination of genetic material جاية من ايه ؟
from different organisms

- عشان نحصل على ايه
to construct of new gene combination

العلم ده كبير وليه اسامى مختلفة فى الطب ولو احنا ماقولنالكش الملحوظه دى ممكن تفتكر ان دى تخصصات مختلفة فى الطب يعنى لو سالتكو تحبو تتخصصو فى ايه لما تكبرو واحد يقولى فى gene recombination وواحد تانى يقولى عايز اشتغل فى ال cloning وواحد يقولى لأ انا عايز اتخصص فىmolecular biologyوواحد فى recombinant technology ودى تكنولوجيا جديده قاعدين على قهوة وعملو دماغ فكل واحد بيقول تعبير بينما كلهم بيتكلمو فى الاخر عن حااجه واحده

هى الgenetic engineering هى DNA recombinant هى ال molecular biology كل ده نفس التعبيرات المهم تجربتنا بقى

دى احد التجارب الى اشتغلتها فى الدكتوراه وبااعتز بيها اوى عشان كده هعملكو simplification فيها ناس هتقولك دى حاجه صعبة . دى حاجة خطيرة لابعد حد تعالو نفترض مثال:

مرضى السكر الى هم عندهم insulin deficiency عايز اعوضهم اديهم insulin طب اجيب الinsulin ده منين ؟؟ من انهى source؟؟ حلو يظبطلهم السكر بتاعهم لكن يعملهم allergic manifestation لانك بتحقنهم ب insulin protein جاى من foreign animal

فال immune system يتعرف على الinsulin بتاع الحيوان على انه foreign فيكون ضده antibodies فيحصل antigenic antibody reaction جوه جسمك يبقى انت خفيت من السكر لكن دخلت فىdilemma الimmune response الى بيودى الى tissue damage فيكون حد كان عنده مريض سكر ويشوفه لما بيحقن نفسه فى نفس مكتن الحقن بيكلكع اهو ده immune reaction يبقى انا ها اعالجه من السكر واجيبله reaction مش تمام يعنى

طب ماتيجى نحضر الhuman insulin نعمله زى ماحضرنا الanimal insulin:

نجيب متطوعين ونستخلص منهم insulin على فكرة الكلام ده ممكن فى بعض الاحيان ممكن نستخلص من البنى ادم product نادر عشان استعمله فى علاج مرض معين بس مريض السكر بيعيش طول عمره lifelong dependent على ال insulin يعنى لو اخدت شوية مثلا من عبد الفتاح عشان اديهم لمحمد طب ماهو بكرة محمد محتاج تانى اخد من عبد الفتاح تانى ؟؟يعنى يبقى شعارى مواطن سليم لكل مريض سكر ؟؟ده لو انا نازل انتخابات ماشى يبقى شعارى كده على اليافطة بتاعتى مواطن سليم يعنى اجيب عبدالفتاح اديه لمحمد اقوله كل ما تعوز insulin استخلص منه ماينفعش يبقى انا بقى عشان استخدم genetic engineering فى مثل هذه التجارب اعمل ايه ؟؟اهو اروح

للكروموسوم الى عليه الجين الاحمر ده بتاع ال insulin وعايز اخد الgene الاحمر ده وادخله فى النهايه جوة ال host cell يعنى مثلا جوه ال fungus او bacteria اهو ال gene الاحمر دخل جوه البكتيريا هل ينفع اعمل كده تبقى دى خطوة واحدة ؟هل الinsulin gene احطه جوا fungus او جوة بكتيريا وخلاص ؟؟والله احتمال البكتيريا تستجيب وت produce ال insulin لكن اولا جايز ما تستجيبش وده الاحتمال الاوقع ثانيا دا insulin جين واحد فيعنى مش جينات كتير فال product لو حصل هيبقى قليل انا عايز الجين ده يكتر طب الجين ده مايقدرش يreplicate من تلقاء نفسه ليه ؟؟

لانه non replicating fragment فيبقى احطه على replicon

شوفتو بقى الكلام بتاع شابتر 5 ينفعنا ازاى ,الجين مايقدرش ي replicate

طب احطه على replicon طب احطه على كروموسوم .لاء لان الكروموسوم ده طويل اوى يبقى كده يبقى احطه على حاجه صغيرة عشان يعرف يدخل جوة الخليه احطه على plasmid

يبقى انا بصو عشان اقص الجين هاروح اجيب مقص والمقص بتاعنا هنا هو restriction endonuclease enzyme هاروح اجيب vector هذا ال vector هيبقى plasmid هاقصة بنفس المقص اهو عشان افتح ال vector بتاعى اهو واروح جايب الجين بتاع ال insulin احطه على ال vector بتاعى والحمهم الاتنين بعض باانزيم اسمه ligase enzyme كده حصلت على recombinant molecule اروح مدخله جوا ال bacterial host

يبقى انا دخلت الجين بتاع ال insulinمحمول على ال vector هذا ال vector لما ي replicate مرة او اتنين

ياسلام لو يقوم يوصل insulin gene فى الخليه الواحده 30-50 copies

اقوم استخلصه واعمله purification واعبيه فى انبوبة ودا مش خيال علمى

لو نزلت دلوقتى لاى صيدليه مفتوحة وقولتلهم عايز انسولين بشرى هيديك انبول ب30 جنية غالى بس شوية عن animal insulin القديم مابقاش وهم اهو

يعنى عايز تقولى ايه الخطوات بتاعة DNA recombinant مع بعض كده الخطوات ...طب بلاش بالرسم نقولها بالكلام اهى الخطوات بتاعتى

ال requirement بتاع اى recombinant

واحد يكون gene interest الى هو فى المثال الى قولناهولكو gene insulin

وهيسموه 5 اسامى:

- foreign لانى هدخله جوة خليه هيعتبر بالنسبالها foreign
- وهسمية passenger لانه هيمشى معايا كل الخطوات دى كانها رحلة وكانه هو مسافر
- وtarget لان الهدف بتاعى بيبقى هذا الجين وانا عايز ال product بتاعه
- وinsert لانه عامل insertion على cloning vector كل دى مسميات لجين ال insulin الى فى التجربة بتاعتنا

طب كويس هجيب restriction endonuclease هفتح بيه ال cloning vector وقطعة ال gene insertion واخد الجين حلو هاجيب cloning vector ادى 3هالحم ال cloning

vector اللى قطعة بالgene insertion بال ligation
يعنى هحتاج DNA ligase enzyme هدخل ال recombinant molecule انا عملته من ال gene وال vector جوا a suitable host وليكن بكتيري او فيروس او حتى eukaryotic cell خلية بتاعة نبات خليه بتاعة حيوان خليه بتاعة بنى ادمين
اى نوع من انواع الخلايا يعنى لازم الاقى biological host مناسبة للتجربةبتاعتنا .تخيل كده الشابتر خلص .
هى دى عادتنا فى الاول كدا نديلك الى هنناقشه فى الشابتر وبعدين ندخل شوية شويه فى التفاصيل بقى طيب ماتيجى ناخد ال requirement ونتكلم على كل واحد شوية
طيب لول requirement
ال DNA gene interest الى سميناه خمس اسامى هاجيبه من المصدر بتاعه الكروموسوم بتاعه واقطعه يعنى اعمله cleavage وال cleavage يعنى قطعته يعنى اخدته بالby restriction endonuclease enzyme كفاية عليه الكلام ده اخدتو طريقة تانية فى البايو بس مش عايزين نزحملك دماغك بيها ممكن اروح للmRNA بتاع المنتج بتاع ال insulin واستخلصه واعمله reverse transcription وارجعه ل DNA تانى ودى طريقة بيعملوها لما بيكونو بيجهلوا ال location بتاع الجين فين ,تستنى لما الخلية تنتج product وتروح واخد ال mRNA وتقوم عامله reverse transcription ترجع RNA الى DNA تانى يبقى كانك حصلت على الجين وتقوم عامل التجربة بتاعتك بنفس الخطوات ودى تفاصيل زيادة واحنا مش عايزين نزحمك احنا منهجنا كبير وتفاصيلنا كتير بما فيه الكفاية فاى حاجه اخدتها فى مناهج تانيه بنحاول نخف التفاصيل منها خالص ان شاء الله

نمرة 2 عايزين نتكلم على ال VECTOR

الdefinition:

فى 3 نقط بيجو اسئلة فى امتحانات واحد ال definition اهو يعتبر carrier او مركبة that can carry and introduce foreign DNA inside a suitable host
carrier زى plasmid كده هشيل علي ال DNA fragment واخلها جوة suitable biological host
حلو ده ال definition بيجى سؤال ال define فى الامتحان يعنى ايه cloning vectors ؟؟

السؤال التانى مش همشى بترتيبة الكتاب هنا بقى معلش هنط واروح اخد types الى انت لسه سخنين ف دماغك
اهم الرسمة دى واقولك لما تراجع شابتر 5 و6 يبقى شابتر 7 ده كلام عبيط ايه انواع ال cloning vector المعروفين لدينا والى بستخدمهم فى تجارب genetic engineering ؟؟؟
واحد plasmid جميل ... which type من ال plasmids الى قولناهم relaxed ولا stringent والاولى ال relaxed علل ؟؟ وده سؤال جيه فى الامتحان
شريف بيقول عشان ال copy number بتاعته جوة الخليه بتوصل لعدد كبير وفى حاجه تانى عشان small in size برافو عليك واقول عشان وهو داخل انا ال plasmid usually هدخله جوة الخليه بما يحمله من DNA

بهذه الخطوة دى الى اسمها trans formation البكتيريابة دى هى الى انا عايز ادخل جواها ال plasmid بما يحمله
تخيل كده ان الجين الاحمر ده هو الى ال plasmid شاله ويخش بيه جوه الخلية طب بانهى طريقة ؟؟ طب تعالى فكر كده لو جايب plasmid وشايل عليه جين اهو الى بشاور عليه ده وعايز ادخله جوة الخلية سامع واحد بيقول سامع واحد يقول دخله جوة الخلية ال donor وتديه لل recipient ب ال conjugation
اقوله ياذكى طب انا الى يخلينى اتعب وادخله جوة ال donor ب technique
ادخله على طول لل recipient على طول بنفس ال technique
طب انا هدخله جوه ال donor ازاى يعنى؟؟
يقولى دخله جوه ال bacteriophage وده technique اصعب
طب ماتيجى بال transformation اسهل يقولى بس البكتيريا بتاعتك جايز ماتكونش competent اقوله اقوم اعملها انا artificial competence الى اخدناها احطه فى كالسيوم كلوريد عشان اوسع الpores فالDNA يدخل بس برضه مهما كان
ال artificial competence له limit يعنى ايه ؟؟
يعنى البكتيريايه ماتقدرش تاخد عن طريق cytoplasmic membrane بتاعها غير DNA fragment يتراوح طولها بين10-15 KM
يبقى لازم شروط انا عايز ال plasmid بتاعى قد ماقدر يكون صغير ليه؟؟
عشان يقدر يcarry fragments كبيرة
يعنى اديك مثال
يعنى لو الخليه تقدر تستوعب recombinant molecule طوله 15Kilo
طب لو ال plasmid ده طوله 10ماقدرش احمل عليه غير 5 Kilo بس كمان عشان يعرفو يخشو
تقولى ال plasmid قدرته مايقدرش يشيل غير 5بس ؟؟لا ال plasmid يشيل 500 بس هى مش رفع اثقال مش القدرة على ان ال plasmid يقدر يشيل ايه لكن القدرة على انه يخش بيه جوة الخلية ولا لاء
فاذا كانت الخليه مش هتسمحله غير انه يعدى maximally ب 15Kilo بس هم الى يخشو ,طب لو هو كبير 10Kilo مش هيقدر يشيل غير 5 بس عشان يقدر يخش بيهم,طب لو هو 15 مش هيقدر يشيل حاجه لكن لو 3 او 4 ممكن يشيل لحد 10
بص يعنى هيبقى من شروط ال plasmid انه يكون صغير وال relaxed هو الى دايما صغير يبقى هو الانسب
طب لو انت مش عارف ايه ال requirement بتاع ال plasmid الى يخليه انسب ممكن تقول كلمه عامة تاخد بيها الدرجة كاملة
give reason ليه relaxed plasmid بيبقى ليه القدرة على ideal cloning ؟؟
تقول لانه بيدى ال requirement بتاعة ال ideal cloning vector .
طب ممكن استخدم ال DNA bacteriophage ك cloning vector؟
نعم ودى قولنا أنها فى تطبيقات ال bacteriophage من استخداماته فى المعمل. ازاى ؟؟
بصوا كده لو ال bacteriophage جواه ال DNA بتاعه بس ، مش أنا ممكن أجيبه فى

المعمل وأعبيه على فكرة ال bacteriophage لما يبقى ال DNA بتاعه جوا الhead ما بتبقاش مليانة على آخرها ، يعنى ال DNA بيسيب فراغ كده عشان متبقاش الدنيا زحمة جوا ، بيتراوح من 5-30% من حجم ال head يعنى ممكن اعبى ال head بما يعدل 5-30% من حجم ال DNA بتاع البكتريا؟ نعم

طب ما أنا أجيب bacteriophage أحطه فى المعمل عندى وأعمله packagingأعبيه DNA فى حدود اللى ال Head تسمح بيه كأنه حقنة أو سرنجة وأروح سايب ال bacteriophage ي inject ال DNA اللى انا عبيته بيه داخل الخلية يبقى لو استخدمت bacteriophage ك cloning vector هيدخل ال DNA اللى جواه داخل البكتريا بأى وسيلة من وسائل ال Gene transferاللى نعرفها by transduction

ادينى مثال ل bacteriophageيمكن استخدامه فى القصة دى ،

bacteriophage اسمه lambdaاللى هوا زى حرف الy المقلوب بتتكتب كده Y اللى هوا usually infect E coliاللى هوا انا عارف ال Host بتاعه كمان

يعنى لو جبت الhost بتاعى ال E coliوعبت ال bacteriophage ال DNA اللى انا عاوزه وأسيبه يحقنها بيه ، طبعا انت لما تيجى تتكتف وتاخد حقنة بتشترط يبقى حجمها 0,1ولا 0,3 ولا 0,5 ولا بتسيبه يديك الحقنة بتاعته ، انت خلاص اتكتفت وهتاخدها يعنى هتاخدها ، مش كده ولا أيه؟! يبقى هنا مفيش limitation ب هتتحقن اد ايه؟ لكن ال limitation فى ال head هتستوعب اد ايه؟ ومن هنا بقى علماء ال genetics عشان تعرفوا بردو اننا بنشتغل فى ال genetics وبنفكر شوية ، روحنا عاملين cloning vector تالت اسمه cosmidsسمعتوا عنه فى الكميا بس مافهمتهوش، أنا متأكد من كده لأنه ماتقالش بالتفصيل ولا احنا عاوزين نقوله لك بالتفصيل ، بس اسمح لى أنا عاوز أفهمك لك يعنى ايه cosmidدى يا ولاد؟

عملنا خليط من حاجتين بين ال plasmidاللى قولته لك فى الأول وبين ال bacteriophage،ازاى؟!

بصوا من دراستنا فى ال genetics عرفنا أن لو انا عندى bacteriophage بسيط يعنى بس Head و tailوالhead فاضية عملناها وجبناه فى المعمل وجينا نعبى فيه DNA رفضت تماما وكأنه ال Core بتاع ال Tail مسدود مش عاوز يعدى حاجة ، طيب روحنا جايبينه معبينه بال DNA الأصلى بتاعه راح قبل وكأن ال core بتاع ال tail اللى بتسمح بدخول ال DNA اتفتح ، يعنى ال Coreتبقى مسدودة وما تسمحش لحاجة تخش لو كانت foreign لكن ال DNA بتاع البكتريا أهلا وسهلا، مفهومة وواضحة؟

قومنا قلنا لو دا ال DNA بتاع ال bacteriophage اهو ايه الجزءفى ال bacteriophage اللى بيخليه يتنبه ويسمح له بالدخول؟ حتة من ال DNA دورنا عليها لحد ما لقيناها هى المسئولة عن عملية ال packaging كأنه بيتم التعرف عليها يقوم ال DNA يفتح ويسمح لها بالدخول كأنه بالظبط فى حياتنا العملية الكارنية اللى أنت بتخش بيه الكلية ، طب لو أنا استلفت الكارنية بتاع حد اخش بيه صح؟ قومنا رايحين لل DNA بتاع ال bacteriophage وواخدين منه الكارنية، قطعنا الحتة اللى ال head بتتعرف عليها يبقى خدنا الكارنيه بتاعه وروحنا لحمناه (لزقناه) فى plasmid صغير، جبت plasmid صغير أهو وربطت عليه الكارنية فى الحتة بتاعة الDNA بتاعة الbacteriophage يبقى أنا عملت أيه؟ خلطة من

ال plasmidعلى الbacteriophage DNA روحنا مسمينه أيه؟ cosmid
ليه سميته كده؟ Mid اللى هما آخر 3 حروف جايين من plasmid وCos هى اسم الجزء اللى اخدته من ال DNAبتاع الbacteriophage اسمه COS region وعلى فكرة الناس بتوع الGenetics زى حالاتى كده خلقهم ضيق شوية مايقولش الكلمة على بعضها يختصر الكلمة فى حرف أو2 او 3 بالكتير لما يكون عاوز يتكلم معاك فلما يبقى COSدى تبقى اختصار لكلمة cohesiveلأنهم لقول الحتة دى اللى بتسمح بدخول ال DNA موجودة فى الtailبتاع الDNA يعنى فى آخره،ولو لقيت ال DNAدا ولحمته(لزقته) الطرف دا هيلزق فى الطرف دا cohesiveيعنى لزقةيعنى يمكن للbacteriophage DNA يبقى linearوتلحم كده الطرفين تلزقهم ى بعض يلزقوا يبقوا circular فيروحوا مسمين ال end دى cohesive وراحوا اختصروها فى كلمة COS كل التفاصيل دى أنا مش عاوزها منك، يبقى تعريف الcosmid (لأنه جه مرة definition) يعنى ايه cosmid؟
يعنى artificially constructed cloning vector
معمول من أيه؟ تفتكر كده بقى فى الإمتحان معمول من كلمة اسمها COS وكلمة اسمها Mid طب لما اربطهم مع بعض استفدت ايه؟ هجيب DNA يكون كبير فى الحجم واربطه على ال COS دا اللى بالأحمر ده طب وبعدين ، ما انت كده لو دخلت جوا البكتريا بال transformation زى ما انت متعود تدخل ال plasmid بيه يبقى انت بالعكس ده انت صعبت على نفسك وعلى البكتريا لأنك زودت حتة مكنش ليها لازمة ، يبقى انا مش ناوى ادخله بال transformation أومال ناوى أعبى ، خد بالك الMolecule دا فى ال empty head بتاعة ال bacteriophage يعنى يوم ما تقرر أنك تشيل DNA Molecule على Cosmid يبقى لازم تجيب له bacteriophage فاضى .
أيه الميزات بقى اللى انت اكتسبتها؟ الcosدى area موجودة هنا بيسمح للDNA بالدخول ، طب وبقية ال Zonesبتاعة الplasmid
يمكن عشان لما ارجع احقن فى الخلية يبقى ال plasmid هوا اللى بيعمل autonomous replication لان الCOS region بتدخل الDNA جوا الhead بس غير قادرة على ال replication طب ما كنت عبيت ال DNA بتاعك على DNA مليان ال DNA بتاع ال bacteriophage اللى انا مش عاوزه ى تجربتى زاحم هنا على الفاضى فكأنى فضيت ال head بتاعت ال DNA الأصلى وأخدت بس ال cosوربطت على حتة plasmid صغير وربطت بقى اى DNA Moleculeاقولك بقى بالارقام مثال حقيقى ال head بتاعت ال bacteriophageبتستوعب 52 kb دا مثال حقيقى ، طب 52 kb ال cos 2kbبس يبقى أنا رميت كام؟ ال DNA بتاعه أخدت 2 ورميت 50 kb طيب جبت plasmid صغير طوله 4 او 3 بال Kb يبقى ال cosmidعلى بعضه 6 kb أقدر بقى أشيل up to 52 عشان أعبى الhead يعنى أقدر أشيل 46 او 50 kb
ال head تستوعبهم لما يكون عندى DNA Molecule كبيرة هاستخدم الcosmidليه؟ لأنى هعبى بيه headفاضية بتاعة bacteriophage وأخليه inject ال DNA بال transduction اللى مافهمهش مش مطلوب منك تفهم ال cosmid لكن تعرف فيه حاجتين
أولا: تعريفه

ثانيا:استخدامه
ميزته:
انه يقدر introduce larger fragments
طب واحد يقولى هات ال cosmid وحط عليه الgene بتاع ال insulinو عبى به ال head يخش ولا مش هيخش؟ اه هيخش ، طب هيتحقن ولا مش هيتحقن جوا الخلية؟ اه هيتحقن لكن مش هي replicate جوا الخلية يبقى انت حصلت لى صورة واحدة من ال gene جوا الخلايا
انا الplasmid حاطه عشان يبقى مصدر لل replication دى الفكرة ، اللى مش عايز التفاصيل أنا مش بزعجك بيها انا بس بفهم اللى عايز يفهم ، فلو تفصيلة زيادة عليك مش عاوزها انساها حتى الكتاب مقلهاش يبقى انت مش ملزم بيها
اعتقد كده بعضكم فهم الcosmidايه ميزته ؟
حد فيكم فكر لما أحب أعوز أن ال host بتاعى النهائى يكون خليةanimal او plant او بنى آدم لو انا عايز ادخل الgene دا جوا ال human Cell هوا ممكن تدخل حاجات جوا ال human cell اه فى حاجات اسمها gene therapy هنعرفها دلوقتى، لو عاوز استبدل gene بايظ جوا الخلية ، اتحرق جوا ، اشيله واحط واحد سليم، اه ينفع، طب احط بايه بيقى محتاج Vector، طب يا ترى اى vector من اللى فاتوا دول ينف فى البنى آدمين ، ينفع اجيب bacteriophage واحقن بيه gene جوا ال Human Cell؟ لأ ، لا ليه ؟

لأن ال bacteriophage دا عبارة عن virus بي infect ال bacterial Cell ملوش receptors تناسبه على ال human cell طب وبالتالى يبقى ال cosmidبردو مش هعرف استخدمه فى شغل البنى آدمين وال plasmid مش كل الhuman cell يقبلوا ياخدوا ال plasmid، يعنى يوم ما تحب تعمل تجاربك على ال human Cell يبقى ولا vector من دول ينفع، لا اومال يبقى مين الvector المعتمد animal viruses بص حتى الكلمة اللى عاوزك تبروزها فى السطر التانى عندك ان دول يعتبروا suitable cloning vector لل eukaryotic cells طب الanimal viruses بقى يعنى ايه؟ بصوا بقى يا ولاد انا مش عايزك تزعج نفسك بالاسامى ، الكتاب كاتب لك 3 اسامى فيروسات يقولك retroviruses و adenoviruses و vaccinia viruses متحفظش اسامى انا هجيب ال virusواعمله manipulation ألعب فى ال virus genome واشيل عليه ال gene اللى انا عاوزه وكأن ال virus هستخدمة ك vehicle carrier عشان كده بيسموه gene delivery vehicleيعنى أيه؟ توصيل الجينات للمنازل ، طب يا ترى بقى انت قولت لى انواع، بص أنا بقولك الأنواع ليه وانصحك تذاكر الانواع قبل ما تذاكر المواصفات بتاعة ال vectors بعد ما فهمت الأنواع كده تفتكر
ايه هى ال Ideal cloning vector أيه هى الخصائص بتاعته؟
1 - عشان يبقى الvector نموذجى من اللى انت فهمته دا It should be واحدة واحدة وتقول لى ليه as small as possible ليه؟ عشان يقدر يcarry larger pieces of DNA
بس الكتاب مقالش كده الكتاب قال as small as possible to contribute
as little as possible to the overall size of recombinant Molecule

يا صعوبة الجملة يعنى عشان يبقى هو ممثل بأصغرجزء ممكن من ال recombinant Molecule على بعضه ، طب ما تقولها بطريقة اسهل عشان يبقى الجزء الآخر الممثل فى ال Molecule هو الاصغر
عشان ي carry larger DNAهاعتبرهالك صح سهلة ماشى.
رقم 2 يبقى well characterized عشان اجيب plasmid واقطعه بال restriction enzyme وافتحه لازم اعرف المكان اللى هيفتح فيه ما يكونش حتة essential ماتكونش الحتة المسئولة عن ال replicationوالا يبقى بوظتها
يبقى لازم يكون well characterized regarding gene location and Nucleotide sequence عشان اقدر استخدم cloning vector مناسب
3 - طب لازم يبقى عنده site اقدر أقصه بال restriction enzyme شرط منطقى عشان اشيل عليه ال genes اللى انا عاوزاها ،
4 - لازم نمرة 4 يكون قادرعلى ال autonomous replication وعشان كده قولنا relaxed Plasmid هى ال Ideal cloning vector المعروفة والمعتمدة وأخيرا لازم يكون عليه selectable marker أخدتوا بالكم فى الرسمة بتاعت المقصات اللى وريتهالك من شوية ان كان فى مربع اخضر دايما يظهر كده على الcloning vector دا اسمه selectable Marker لازم يكون فى علامة مميزة فى بعض ال techniques ممكن احط مادة radioactive مادة مشعه أقوم اعرف ان دا موجود فعلا جوا الخلية مادة florensicلكن ممكن احط gene له function و ادور على الfunction دى يعنى يوم ما احط ال drug resistant gene ال gene الأخضر ده يقوم يخلى البكتريا resistance لل penicillin يبقى اعرف منين الgene دا دخلها ولا لأ ؟ لو بعد التجربة لقيتها ما زالت sensitive له يبقى الgene مدخلش ، لأنه لو كان دخلها كان هيخيلها resistance يبقى دا معناه selectable markerطب واشمعنى ال drug resistance اللى اختارتاها؟ هقول له مش انا عايز الخلية بتاعتى اللى دخلها ال gene هى اللى resistance أنا هرش penicillin فى نهاية التجربة واللى هيفضل sensitive يموت يولع مش عاوزه لكن اللى هيستنى resistance ويعيش هو دا اللى هدخله ال plasmid اللى انا عاوزه هو ده اللى هاخده اكمل به التجربة ده بدل ما اقعد ادور على خلية خلية ومين دخلها plasmid ومين مدخلهاش؟ ماترش بقى وخلاص
بعد كده هلحم الDNA بتاعى بالligase انزيم وادخلهم جوا ال host cell عشان يحصل amplification ويبقى انا عملت تجربتى بال genetic engineering
كده يبقى نهينا الكلام عن حاجتين مهمين
ال DNA بتاعى ال interest اهو مين؟ ال insulin gene مثلا ويعنى ايه ال cloning vector ،
فاضل كلام عن 3 حاجات سراع وسهلين واخدتوهم فى الكميا

رقم 3 restriction endonuclease enzyme

تعريفه اللى عندك فى الكتاب مكعبل، نقرأه كده ونشوف ايه الكعبله اللى فيه؟ دا عبارة عن enzyme بيقدر ي recognize الspecific nucleotide sequencesويعمل cut او

internal ف strands 2عند ال specific site within DNA moleculeل cleavage positionجوا ال sequences اللى هو اتعرف عليها
لما تلاقى تفصيلة صعبة او definition صعب، ارسمه، بيقولى ان الrestriction endonuclease عبارة عن انزيم واداني مثال فى الاخر كده عشان اشرح بيه اسمه EcoRI وهنفهم دلوقتى جات منين ؟ بصوا بقى ال Ecor1 ده يا ولاد بيتعرف على site اسمه GAATTCلما ال EcoRI يشوف ال site ده يقوله جتك ايه هو انت :3 ويروح قاطع بين الG وال Aبالتحديد طب ليه دايما المثال ادا هو اللى بندرسه اصل ال GAATTC بيسموه palindromic يعنى على ال two strands يقرأGAATTC فى اتجاه وعلى ال strand التانى يقرأ GAATTCفى عكس الاتجاه
لما اكتب المثال ادا واجى أقرأ ال definition تانى على الصورة اللى قدامى هلاقى ال definition بقى سهل ، بص بقى واحدة واحدة ادا الانزيم اللى بـrecognize specific nucleotide sequence زى ال Ecor1 بـrecognize GAATTC فهمنا اول جملة ، وي catalyze cleavage او يعمل cutting لل specific nucleotide sequence هوال GAATTC و specific site جوا ال sequence بين ال A والGويقطع ال 2 strands خصوصا لما يكون palindromic ودايما داخلى عشان كده اسمه endo
مصدرنا فى ال restriction endonuclease فى الدنيا هو:
الكائنات الحية الدقيقة حتى اللى موجودة فى الإنسان
طب البكتريا اللى بتطلعه دى ما هو ضرر ليها ، ما هو مش ممكن تصادف ان ال E coli اللى بتنتج ال nucleasesيكون عندها GAATTC فى الكروموسوم بتاعها وارد طبعا، أفهم من كده انها بتطلع EcoRI عشان تنتحر ؟! الإجابة لأ، ليه؟ عشان فى حاجة اسمها Methylation system البكتريا اللى عندها ال sequence اللى بيتعرف عليه نفس ال enzyme اللى بتفره ، تقوم حاطة methyl group قبل الsequence كأنه بتقول لل EcoRI عديها methylation او modification يعنى اوعى تقطع هنا ال sequence ادا تبعنا يعنى افهم من كده ان شغل ال EcoRI بقى restricted لل foreign DNA ومنها جه الاسم ،
ليه اسمها restriction enzymes ؟
عشان الaction بتاعها restricted لل unmethylated DNA
رابع خطوة اجيب ال vector اللى فتحته واجيب ال DNA ## واحطهم على بعض واحط الligase انزيم مستخلص بردو من ال E Coli اسمه DNA ligase اللى مصابة بال t4 استخلصناه منها وسميناه t4 DNA ligase عندك براجرافين فى ال ligase احفظ الأولانى وسيب التانى فى تفاصيل كميا مش عاوزينها

نيجى للنقطة الأخيرة ال host organisms

هدخل بقى ال recombinant molecule يعنى ايه فى تجربتنا هنا؟ من هوا ال recombinant molecule هو ال vector+ الجين اللى شايله اللى هوا هنا ال plasmid وال insulin اللى شايله هدخله جوا bacteria او fungus بردو الكتاب قايلك اسامى كتير لبكتريا او فطريات بتستخدم لهذه التجارب فى اسم منهم انت عارفه

E-coli هو يعتبر Host مناسب لمعظم تجاربنا بتاعة ال genetic engineering حلو بس خد بالك بقى من الحته اللى جايه فى مطب جاى اهو ... اى host لازم تستعمله لابد ان تتوفر فيه شروط كتير منها
الشرط الاول: ال host اللى هدخل فيه تجربتى فى الاخر يكون مفيهوش اى restriction enzyme او اضعف الايمان مفيهوش الانزيم اللى انا استخدمته فى شغلى عشان ميكسرش ال recombinant molecule اللى انا دخلته جوا الخليه انت ايه هدفك من التجربه بتاعة ال insulin انا ذكرت المثال عشان يبقى فى ذهنك طول الحصه انك ت reproduce ال insulin وتعالج الناس بيه طب ما انا كان ليا هدف تانى ممكن اعمله انه احصل على insulin gene مش insulin product طب لو دا هدفك يبقى:
- لازم يبقى فى وسيله سهله لفصل ال gene بتاع ال insulin عن ال gene بتاع البكتيريا فال host اللى هختاره لازم يبقى فيه ال methods ال physical او chemical اللى هتسهلى انى افصل ال DNA بتاع الجين اللى انا دخلته وال original DNAبتاع الخليه ... دول الشرطين الاهم بالنسبه ليكم اقولك حاجه تالته مثلا شرط انه يكون الخليه معندهاش sex pilus عشان متروحش تنقل الصفه اللى انا دخلتها جواها لكل من هب ودب وقد تكون الصفه دى فيها مشكله فيها hazard قوم ينتشر الhazard ده فى الدنيا مثلا فى شروط كتير بس كفايه عليك الشرطين دول.
أخر حاجه فى حصتنا انهارده يا ترى ايه
هى التطبيقات العامة للDNA technology
عايز تطبيقين ضحكت عليكوا وقولتهملك . فى علاج مرضى السكر عندى تطبيقين اهو انا هعمل حاجتين يا اما هحضرprotein له medical importance زى insulin hormone طب اشمعنا الinsulin طب ما تعمم اى protein له اهميه زى كل الهرمونات احضر antibodies و antibiotics وcytokines وinterferon ما انا ممكن بردو بدل ما اكتر ال insulin احضر ال genes بتاعته واعمل gene therapy
التطبيق التالت طب ما تكتر ال genes وبس بدل ما تعالج بيها ما تدرسها و gene جمب gene ويبقى درست الmolecule كله وmolecule جمبmolecule يبقى درست ال genome وكله دراستنا ورسم خريطه اسمها chromosomal mapping والgenome يتم بمساعده هذا ال technique على نفس مستوى تحضير البروتين ما انا ممكن احضر vaccines معظمكم اللى قاعد قدامى
دلوقتى وهيبقى كلكم على اخر السنه ان شاء الله وخصوصا اللى ناوى يكمل منكم ويروح سنه رابعه ويشوف دم ويتعرض لفيروس B...الvaccine بتاع hepatitis B متحضر بال genetic engineering بنحضره ازاى والتفاصيل مش مطلوبه منك دلوقتى قدام شويه هناخده بالتفصيل اما ندرس ال hepatitis يبقى ممكن احضر vaccines بنفس الفكره اه واشهر واحد اتحضر هو hepatitis vaccine B اخيرا بقى حاجه صعبه شويه ممكن اعمل حاجه اسمها probes هو single shorten DNA or RNA بنحضره وطالما عرفت تحضر ال DNA و RNA بالtechnique ما تيجى نحضر حاجه اسمها genetic probe بتكون specific ضدorganism معين يعنى مثلا الامراض الصعب تشخيصها زى ال hepatitis B بردو ادى الجين بتاع الB hepatitis نشوف حتهspecific بيه واروح اعملها

complementary strand اصنعه بال genetic engineering واروح لازق عليه علامه مميزه يا اما يوم ما ييجى مريض شاكك انه عنده hepatitis اعمل ايه اروح واخد عينه دم من المريض لو عنده المرض يبقى الفيروس فى العينه لو ال single strand ده لاقى ال complementary بتاعه هيعمل ايه ؟؟ هيشبك فيه يبقى عرفت انا فيه فيروس فى العينه ولو مشبكش فيها يبقى مفيش فيروس فى العينه ...